

# Extracción de pigmentos naturales a partir de las plantas *Justicia tinctoria* y *Bixa orellana* como una alternativa al uso de tintes sintéticos en Costa Rica

Isaura Gutiérrez Vargas<sup>1</sup>, Aracelly Zárate Cordero<sup>1</sup>, Wendy Zárate Cordero<sup>1</sup>  
[isaura.gutierrez@ucr.ac.cr](mailto:isaura.gutierrez@ucr.ac.cr), [aracelly.zarate@ucr.ac.cr](mailto:aracelly.zarate@ucr.ac.cr), [wendy.zarate@ucr.ac.cr](mailto:wendy.zarate@ucr.ac.cr)

Escuela de Estadística, Universidad de Costa Rica

## RESUMEN

Los tintes sintéticos son muy populares debido a su bajo costo, aunque su uso se asocia a problemas de salud y medioambientales. Las especies *Justicia tinctoria* y *Bixa orellana* son una alternativa natural al uso de tintes sintéticos de fácil acceso y bajo costo en Costa Rica. Por tanto, la utilidad de este estudio reside en encontrar los factores que optimicen la obtención de tintes de estas plantas. Mediante el uso de un modelo factorial, se quiere analizar el comportamiento de la concentración de los pigmentos ante cambios en la identidad del disolvente, el tiempo de exposición y la masa de las plantas. Debido a que la concentración obtenida depende del tiempo y masa a los que se expone la especie, se mide la concentración a los 1, 2, 5, 10 y 15 minutos de exposición con tres diferentes niveles de masa. Se concluye que ante mayores tiempos de exposición y masa utilizados aumenta el nivel de concentración, mientras que el efecto del disolvente varía de acuerdo a la especie que se estudia. Además, se encuentra que el punto de equilibrio de extracción de los pigmentos requiere condiciones específicas para obtenerse.

**PALABRAS CLAVE:** Tintes naturales, achiote, azul de mata, absorbancia, diseño factorial.

## ABSTRACT

Synthetic dyes are very popular due to their low cost, although their use is linked to health and environmental problems. The species *Justicia tinctoria* and *Bixa orellana* are a natural alternative to the use of easily accessible and low-cost synthetic dyes in Costa Rica. Therefore, the usefulness of this study lies in finding the factors that optimize the obtaining of dyes from these plants. Using a factorial model, the behavior of the pigment concentration is analyzed by changes in the identity of the solvent, the exposure time and the mass of the plants. Because the concentration obtained depends on the time and mass at which the species is exposed to the solvent, the concentration is measured at 1, 2, 5, 10 and 15 minutes of exposure and 3 different levels of mass. It is concluded that with greater exposure times and mass used, the concentration level increases, while the effect of the solvent varies according to the species being studied. In addition, the extraction equilibrium point of the pigments requires specific conditions to be obtained.

**KEYWORDS:** Natural dyes, achiote, azul de mata, absorbance, factorial design

<sup>1</sup> Estudiantes de Estadística de la Universidad de Costa Rica

## INTRODUCCIÓN

Los pigmentos han sido ampliamente utilizados desde la antigüedad, en una gran variedad de actividades. Desde la pintura como expresión artística, la coloración de cerámica y también para brindar un aspecto más atractivo a los alimentos y telas (Parra, 2004). En los últimos años el uso de colorantes naturales ha caído en desuso, ya que han sido desplazados por opciones más económicas como los tintes sintéticos.

De acuerdo con Ardila-Leal et al (2021), a pesar del abaratado costo económico de los pigmentos sintéticos, el uso de estos está ligado con efectos perjudiciales para el medio ambiente y la salud, desechar tintes sintéticos en cuerpos de agua tiene consecuencias graves en los ecosistemas, se ha demostrado que estos son potencialmente carcinogénicos y generan reacciones alérgicas. Ante la preocupación por la conservación del planeta y la forma de relacionarnos con él, se ha promovido un cambio en los hábitos de consumo, que generan un escenario favorable para la investigación, comercialización y uso de productos libres de químicos sintéticos (Mattenet, Goyheneix & Peri, 2015).

Actualmente, se ha hecho un esfuerzo por rescatar las prácticas empleadas por pueblos indígenas para la extracción de pigmentos naturales a partir de plantas tintóreas. Uno de los pigmentos más conocidos es el extraído de las semillas de *Bixa orellana* L. que tiene diferentes nombres en las culturas de América. En México y Guatemala es conocido como *achiote*, en las Antillas se le llama *bija*, mientras que en Venezuela comúnmente es llamado *onoto*. (Uscategui, 1961). A su vez, Thompson (2014), señala que el azul de mata cuyo nombre científico es *Justicia tinctoria*, fue extensamente utilizado en Costa Rica y todavía es empleado por los indígenas Borucas. De las hojas de dicha planta se extrae tinte con coloración azul, el cual es utilizado en la manufactura de textiles y como planta medicinal.

Por lo antes expuesto, la utilidad de este estudio reside en encontrar los factores que optimizan la extracción de tintes de las especies *Justicia tinctoria* y *Bixa orellana*, ya que estas plantas de fácil acceso y bajo costo son una alternativa natural al uso de tintes sintéticos en Costa Rica.

La investigación de tintes naturales ha desarrollado métodos óptimos de extracción y tratamiento de las plantas para obtener la mayor concentración de pigmento posible. Zumani et al (2020), resaltan la necesidad de mejorar las técnicas de extracción para incrementar la estabilidad y ralentizar el proceso de degradación del color. Además, indican que es fundamental utilizar el disolvente adecuado para la extracción del tinte, y establecen que el agua destilada y el etanol funcionan mejor como disolventes debido a su mayor solubilidad y menor polaridad.

Por otra parte, Cubillos y Pava (2020) realizaron una evaluación de diferentes tipos de extracción para pigmentos naturales disponibles en Colombia. En esta investigación se pone a prueba el método de extracción por solventes (soxhlet) y el método de extracción asistida

por microondas. Una de las conclusiones es que el segundo método es el más práctico debido a que tiene una capacidad de extracción del colorante mayor debido a la aplicación de una temperatura más alta.

Estos hallazgos son reafirmados por Jiménez, Zambrano y Aguilar (2004), quienes realizaron un experimento en cinco variedades de fruta para determinar el comportamiento de los pigmentos, se sometieron las especies de fruta a un tratamiento térmico de 80°C con el uso de un microondas, y a diferentes tiempos de exposición térmica. Se observó que, en el caso de la clorofila presente en el aguacate, conforme aumenta el tiempo de exposición también lo hace la absorbancia.

Como criterio para analizar cuando se extrae la mayor cantidad de tinte natural, Vieito, Fernandes y Velho (2018) y Fabiano-Tixier et al (2015), hacen referencia al punto máximo de rendimiento como una forma de medir la eficiencia del disolvente para extraer componentes específicos del material original. Es por esta razón que, dentro de este estudio, se le nombra punto de equilibrio al momento cuando la concentración de pigmento extraído no tiene un cambio significativo con respecto a la cantidad de tiempo adicional que se expone la disolución al calor.

En último lugar, Mayanquer y Oleas (2017), llevaron a cabo un experimento para extraer y evaluar la estabilidad del pigmento de la fruta mortiño. Como método para evaluar el color obtenido se realizan lecturas espectrofotométricas a los tratamientos una vez por semana. Debido a lo anterior, se espera que el tiempo de inmersión en la solución tenga un efecto en la obtención del punto de equilibrio manteniendo la temperatura constante, de manera que ante un mayor tiempo se obtenga mayor concentración. Como segunda hipótesis se establece que para ambas especies estudiadas la concentración utilizando alcohol es mayor que la obtenida utilizando agua como disolvente.

El principal objetivo de este estudio es analizar el comportamiento de la concentración de los pigmentos ante cambios en la identidad del disolvente y el tiempo de exposición térmica de las plantas *Justicia tinctoria* y *Bixa orellana* para encontrar la combinación de factores que optimizan la obtención de pigmento. Por otra parte, se busca determinar si el tiempo de exposición a una temperatura constante genera un efecto significativo en la obtención de pigmento tanto en la planta *Justicia tinctoria* como *Bixa orellana*. En último lugar, se quiere comparar el punto de equilibrio de extracción de los pigmentos de ambas plantas utilizando alcohol y agua como disoluciones.

## **METODOLOGÍA**

El experimento consiste en encontrar el punto de equilibrio para la extracción de los pigmentos de cada planta. Como se explicó anteriormente, este se alcanza cuando la concentración de pigmento extraído no tiene un cambio significativo con respecto a la cantidad de tiempo adicional que se expone la solución. Para facilidad del lector se llamará a las plantas por su nombre común durante el desarrollo de este documento.

Para la exploración de este punto de equilibrio, se consideran los factores masa, disolvente y tiempo de exposición a una temperatura fija. Los intervalos de tiempo se decidieron como parte de la recomendación del experto a cargo y se establecieron en 1, 2, 5, 10 y 15 minutos. La unidad experimental son las plantas de achiote o azul de mata y la unidad de observación es una muestra de estas plantas las cuales son expuestas a los diferentes factores.

**Tabla 1**

*Factores considerados en el experimento*

Masa	Disolvente	Tiempo de exposición
<b>Azul de mata</b>		
0.25, 0.5, 1 g	Alcohol, Agua	1, 2, 5, 10, 15 minutos
<b>Achiote</b>		
0.125, 0.25, 0.5 g	Alcohol, Agua	1, 2, 5, 10, 15 minutos

Se cuenta con un total de 30 tratamientos dado por la multiplicación de los niveles de los factores seleccionados. Por tanto, debido a que se tendrán en total 3 repeticiones por tratamiento, se necesitarán 90 unidades experimentales para cada una de las especies seleccionadas. Tanto las semillas de achiote como las hojas de azul de mata utilizadas se recolectaron de una única planta. Una vez seleccionadas, se numeran de 1 hasta 90 y se reparten aleatoriamente en los 30 tratamientos hasta completar las 3 repeticiones por tratamiento.

El proceso de obtención del colorante natural se realizó en Laboratorios de la Escuela de Química de la Universidad Nacional de Costa Rica. Para obtener el pigmento se colocó la muestra seleccionada de la especie en un beaker sobre un agitador magnético y se cubrió con 50 ml de agua destilada o alcohol. Una vez realizados estos pasos, se procedió a agitar la mezcla a 280 revoluciones por minuto (RPM) por el lapso de tiempo que fue asignado. Una vez recolectados los datos, se analizan por medio de un espectrofotómetro lo cual permite determinar la concentración de un compuesto presente en la sustancia medido en el nivel de absorbancia en función de la longitud de onda (nm).

Para medir el nivel de concentración que genera cada tratamiento se utiliza un espectrofotómetro de la marca Evolution 350 UV-Vis, el cual tiene un margen de error de 0.005 nm. Los espectrofotómetros miden las propiedades de transmitancia y absorbancia de cualquier material dado en función de la longitud de onda, determinando así la concentración de un analito.

El espectrofotómetro utilizado expone la solución a luz ultravioleta, lo cual excita los electrones presentes en la muestra. De acuerdo con el experto, este equipo permite medir la

corriente eléctrica que se genera en un material que emite electrones cuando son estimulados por una fuente de luz. Una vez que la luz ha pasado a través de la muestra, se usa un detector para convertir esta en una señal electrónica legible.

De acuerdo con Hardesty y Attili (2010), la medida que otorga el espectrofotómetro es la intensidad de la luz después de atravesar la muestra ( $I$ ). Esta se compara con una muestra en blanco que sería la cantidad de luz antes de atravesar la muestra ( $I_0$ ). La variable de interés absorbancia ( $A$ ) responde a la expresión  $A = LN(\frac{I}{I_0})$ , donde la proporción  $\frac{I}{I_0}$  se denomina nivel de transmitancia ( $T$ ) que expresa cuánta luz ha sido absorbida por la muestra.

La persona experta es José Ángel Rodríguez Corrales, Doctor en Economía y docente de la Universidad Nacional de Costa Rica. El análisis se realiza por medio del lenguaje de programación R (R Core Team, 2020) en su versión 4.1.3. Las librerías utilizadas en este estudio son los paquetes Tidyverse (Wickham et al., 2019), car (Fox y Weisberg, 2019), ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis (Wickham, 2016) y lattice (Sarkar, D., 2008).

Una vez obtenidas todas las variables de los experimentos, se procede a analizar si se cumplen los supuestos de normalidad y heterocedasticidad. Al no cumplirse con el supuesto de heterocedasticidad, se utiliza la técnica de mínimos cuadrados ponderados para realizar un análisis de interacción por medio de un ANOVA. En los casos donde la diferencia es significativa se generan intervalos de confianza para la media por medio de intervalos simultáneos de Bonferroni. Por último, se calcula la potencia de la prueba.

Debido a que se considera la existencia de interacción triple, el modelo inicial planteado corresponde a un diseño experimental con arreglo factorial con la siguiente forma.

$$\mu_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta\gamma)_{ijk}$$

Donde  $\mu_{ijk}$  corresponde a la variable de respuesta, en este caso la concentración de pigmentos medido en la absorbancia (nm)

$\alpha_i$ : Es la desviación de la media general debida a que la observación se realiza en el nivel  $i$  del factor “Tipo de disolvente”. Donde  $i = \{1: \text{Agua destilada}, 2: \text{Alcohol}\}$ . La sumatoria de los  $\alpha_i$  es igual a cero

$\beta_j$ : Es la desviación de la media general debida a que la observación se realiza en el nivel  $j$  del factor “Tiempo de exposición”. Donde  $j = \{1: 1 \text{ minuto}, 2: 2 \text{ minutos}, 3: 5 \text{ minutos}, 4: 10 \text{ minutos}, 5: 15 \text{ minutos}\}$

$\gamma_k$ : Es la desviación de la media general debida a que la observación se realiza en el nivel  $k$  del factor “Masa”. Donde  $k = \{1: \text{Masa 1}, 2: \text{Masa 2}, 3: \text{Masa 3}\}$

$(\alpha\beta\gamma)_{ijk}$ : Son los efectos de interacción triple de los factores “Disolvente”, “Tiempo de exposición” y “Masa”

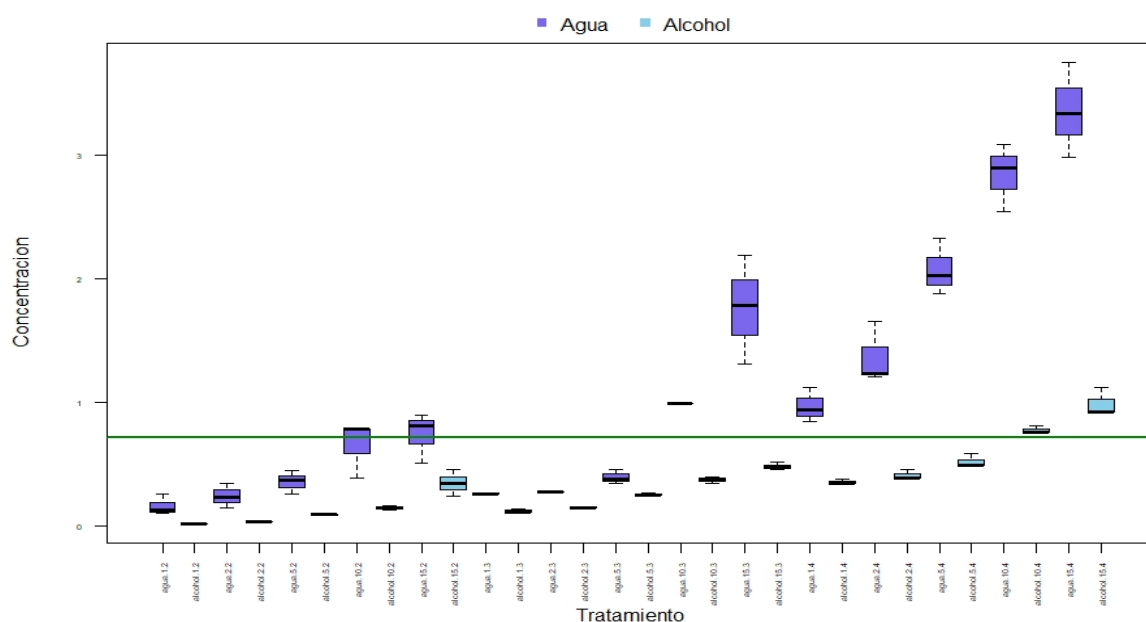
## RESULTADOS

En primer lugar se crea un gráfico de cajas, donde cada caja representa la magnitud de la variabilidad de los datos para los tratamientos y la línea horizontal representa la media general. En la Figura 1 se presenta el caso del azul de mata, se observa que para la masa más baja y el disolvente alcohol se obtiene variabilidad muy baja, mientras que conforme aumenta la masa para todas las muestras que son expuestas al agua, también incrementa su varianza, lo cual puede ser un indicio de heterocedasticidad.

Al realizar una prueba de Bartlett para determinar si se cumple con el supuesto de homocedasticidad de varianzas se obtiene una probabilidad asociada cercana a cero, por cuanto, hay suficiente evidencia para rechazar la hipótesis nula de que las varianzas de todos los tratamientos son iguales con una significancia de 5%.

**Figura 1**

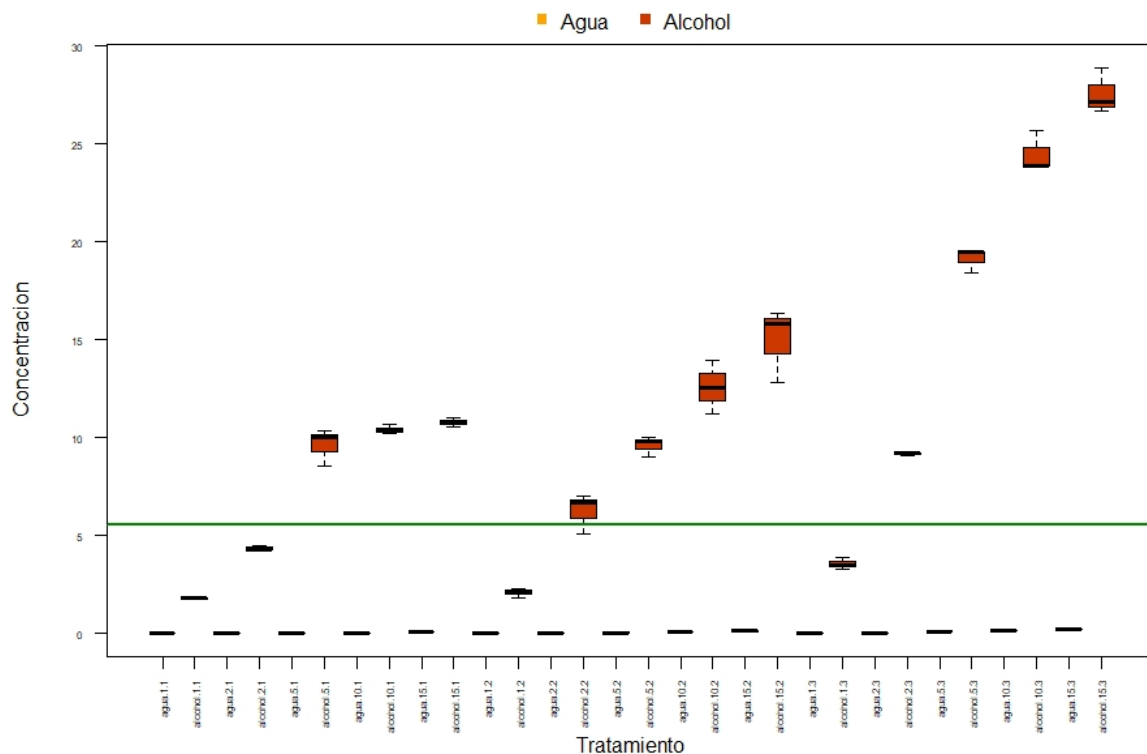
*Gráfico de variabilidad: Nivel de concentración por tiempo, masa y disolvente, para la especie azul de mata.*



En el caso del achiote en la Figura 2, se observa que ocurre lo contrario al azul de mata. Se nota claramente como el achiote al exponerse al disolvente agua presenta una variabilidad muy baja, mientras que al utilizar alcohol como disolvente la variabilidad dentro de cada tratamiento aumenta. Además, conforme aumenta la masa también lo hace la variabilidad entre tratamientos. La inspección gráfica es un indicio de la existencia de heterocedasticidad, esto se confirma con la prueba de Bartlett, la cual presenta una probabilidad asociada muy pequeña cercana a cero. Debido a estos resultados se concluye que no es posible suponer homocedasticidad.

**Figura 2**

*Gráfico de variabilidad: Nivel de concentración por tiempo, masa y disolvente, para la especie achiote.*



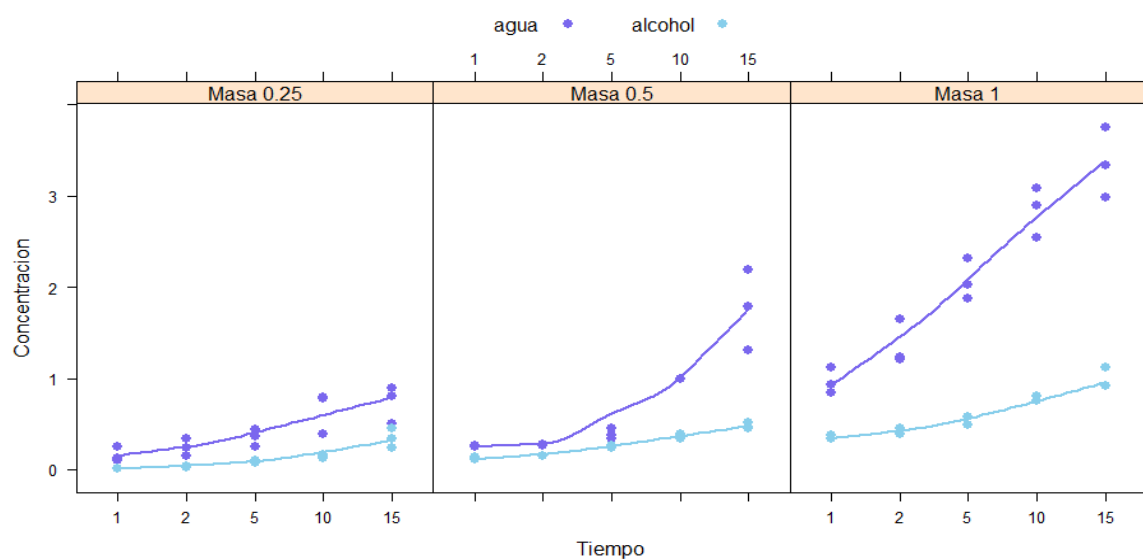
En el caso del supuesto de normalidad, debido a que se tienen 3 datos por tratamiento y el pvalue asociado a la hipótesis de no homocedasticidad es muy bajo las pruebas de normalidad se ven afectadas. Por tanto, se asume el supuesto de normalidad.

Como un primer acercamiento para determinar si existe interacción entre los factores se graficaron los factores en las Figuras 3 y 4. Es posible apreciar que la interacción entre el disolvente y el tiempo se comporta de forma diferente dependiendo del nivel de masa utilizada, esto sugiere que existe una interacción triple entre los factores disolvente, tiempo y masa para ambas especies.

En la Figura 3, en el caso del azul de mata, para el nivel de masa más bajo, el agua y el alcohol generan una diferencia en el promedio de concentración prácticamente nula. Para la masa 0.5g, la diferencia entre los promedios de concentración es similar para el tiempo 1 y 2 con ambos disolventes. Por otro lado, con masa de 1g y en los cinco tiempos, el promedio de concentración cuando se aplica agua aumenta mucho más que cuando se utiliza alcohol.

**Figura 3**

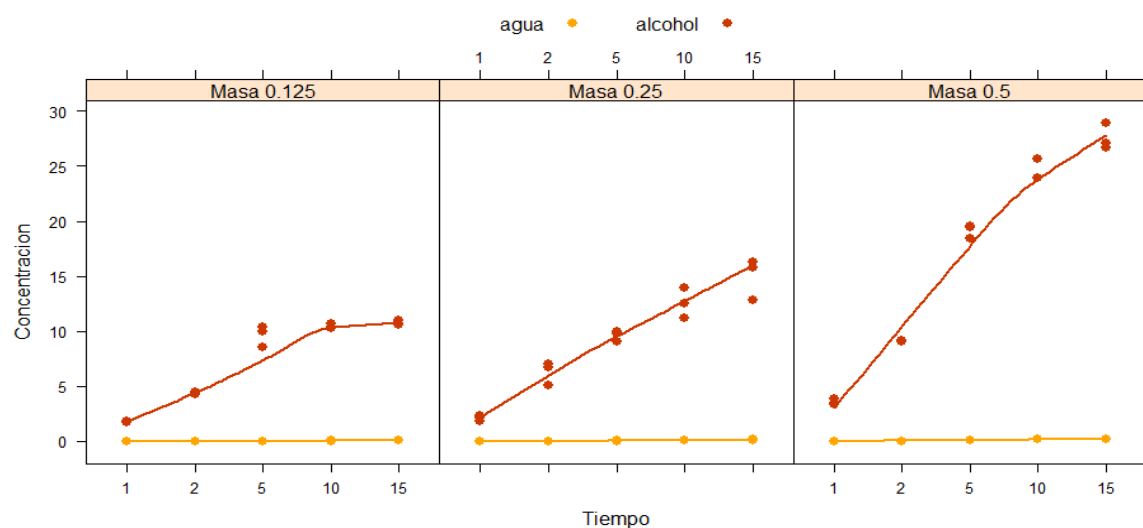
*Promedio de concentración de pigmentos para combinaciones de disolvente y tiempo según niveles de masa, para la especie Azul de Mata*



En la Figura 4 se observa que para la especie Achiote, a diferencia del azul de mata, las concentraciones de pigmento son mayores cuando se utiliza el disolvente alcohol, asimismo, se observa que con mayores niveles de masa las concentraciones aumentan, lo mismo ocurre con los tiempos de exposición.

**Figura 4**

*Promedio de concentración de pigmentos para combinaciones de disolvente y tiempo según niveles de masa, para la especie Achiote.*



Debido a la presencia de heterocedasticidad en los datos se utiliza un modelo de mínimos cuadrados ponderados para realizar el análisis de varianza. Al ejecutar la prueba formal para



comprobar la interacción conjunta entre los tres factores, se observa en la tabla 2, que la variabilidad de los efectos de interacción triple es muy grande en relación al cuadrado medio residual, lo cual genera una probabilidad asociada a la interacción pequeña, con estos resultados se concluye que existe interacción triple. Este comportamiento se observa para ambas especies. Debido a lo anterior, el modelo lineal utilizado es igual al planteado inicialmente.

**Tabla 2**  
*Análisis de variancia*

Fuente de Variabilidad	P Value	
	Azul de Mata	Achiote
Disolvente	< 0.001	< 0.001
Tiempo	< 0.001	< 0.001
Masa	< 0.001	< 0.001
Disolvente, Tiempo, Masa	< 0.001	< 0.001

Puesto que existe interacción triple entre el disolvente, tiempo y masa, se realiza la comparación de las medias de ambos disolventes (alcohol y agua) dentro de cada combinación de los niveles de masa y tiempo. Se realizan cinco contrastes, para cada combinación de masa y tiempo de exposición, es decir, en total se plantean 15 contrastes para cada especie.

Todas las hipótesis se rechazan con un nivel de significancia del 0.05, además, se comprueba que dichos contrastes son ortogonales, por lo que no es necesario aplicar la corrección de Bonferroni. La probabilidad asociada a las comparaciones es muy baja y cercana a cero, por tanto, existe suficiente evidencia estadística para rechazar la hipótesis de que la concentración promedio de pigmentos utilizando como disolvente alcohol y agua es igual en cada combinación de masa con los cinco tiempos.

A su vez, el experto considera que una diferencia relevante en la concentración promedio para el azul de mata es de 12 nm, mientras que para el achiote sería de 10 nm. Esta diferencia se establece ya que por medio de una prueba piloto realizada con anterioridad se determinó que la velocidad de extracción de los pigmentos se ralentiza después de este umbral. En los 15 contrastes se encuentran diferencias significativas entre las medias, sin embargo, en la siguiente sección solo se hace mención a las diferencias que son considerables según el criterio del experto.

Se concluye con 95% de confianza, para el caso de achiote, que la concentración promedio cuando se usa alcohol en un tiempo de 10 minutos y una masa de 0.125 g es al menos 10.002

nm mayor que al utilizar agua en las mismas condiciones, similarmente, cuando se utiliza alcohol en un tiempo de 15 minutos y una masa de 0.125 g, la concentración promedio es mayor en al menos 10.358 nm al emplear alcohol en comparación con agua.

A su vez, con una masa de 0.25 g y con tiempos de 10 y 15 minutos, el promedio de alcohol es al menos 10.341 nm y 11.784 nm respectivamente, mayor al promedio de concentración al usar agua. Finalmente, se observa que los promedios al aplicar alcohol, con una masa de 0.5 g, la diferencia es de al menos 18.036 nm, 22.676 nm, y 25.491 nm con los tiempos 4, 5, 15 respectivamente mayores que los promedios obtenidos en esas mismas condiciones usando agua como disolvente. En el caso del azul de mata, a pesar de que se rechaza la hipótesis de igualdad de medias de todas las comparaciones no se encontraron diferencias relevantes según el criterio del experto.

A pesar de la presencia de heterocedasticidad se obtiene una potencia de 1 en el análisis de ambas especies, con un nivel de significancia del 0.05 y tres réplicas por tratamiento. El motivo de una potencia tan alta podría deberse a que en la prueba de igualdad de medias se detectan diferencias estadísticas significativas, sin embargo, no se consideran relevantes según el criterio del experto. Esto a su vez, se relaciona con las grandes diferencias que existen entre los promedios agua y alcohol, acompañado de las bajas variabilidades que se presentan dentro de algunos de los tratamientos.

## CONCLUSIONES

Durante las últimas décadas, los tintes naturales han aumentado su popularidad debido a que son más amigables con el medio ambiente en comparación con los tintes sintéticos. En este experimento, las pruebas arrojaron que la concentración de pigmento obtenido de las plantas varía de acuerdo al disolvente, masa y tiempo de inmersión utilizado. Además, se cumple que para ambas plantas, tal como se esperaba, la concentración obtenida aumenta de acuerdo al tiempo que se expone la solución.

En relación con los disolventes, se esperaba que el uso de alcohol aumentara la concentración obtenida para ambas plantas. Sin embargo, en el caso del achiote, debido a la naturaleza de su principal colorante (bixina) el alcohol es el disolvente más efectivo para extraer los pigmentos de carácter polar. Para el caso del azul de mata, se encontraron mejores rendimientos al utilizar agua como disolvente.

Dado que se cuenta con una potencia cercana a 1 hay certeza de que, en caso de que las comparaciones realizadas sean diferentes, las pruebas estadísticas logran detectar dicha diferencia. Dado lo anterior, se encontró que el punto de equilibrio se obtiene para la especie *bixa orellana* con tiempos de exposición superiores a los 10 minutos para las tres masas utilizadas. No se encontraron diferencias relevantes para la especie *justicia tinctoria*, lo cual puede deberse a que se requieren mayores tiempos de exposición para poder extraer mayores cantidades de pigmento.

Con este experimento se logró demostrar que métodos disponibles para el desarrollo de la extracción de tintes pueden dar resultados favorables para obtener una alta concentración de pigmentos. Para futuros experimentos se recomienda aumentar el tiempo de exposición hasta los 30 minutos, ya que se observó que en el caso del azul de mata, para obtener concentraciones altas se requiere aumentar el tiempo de exposición, o bien, la masa utilizada.

## ANEXOS

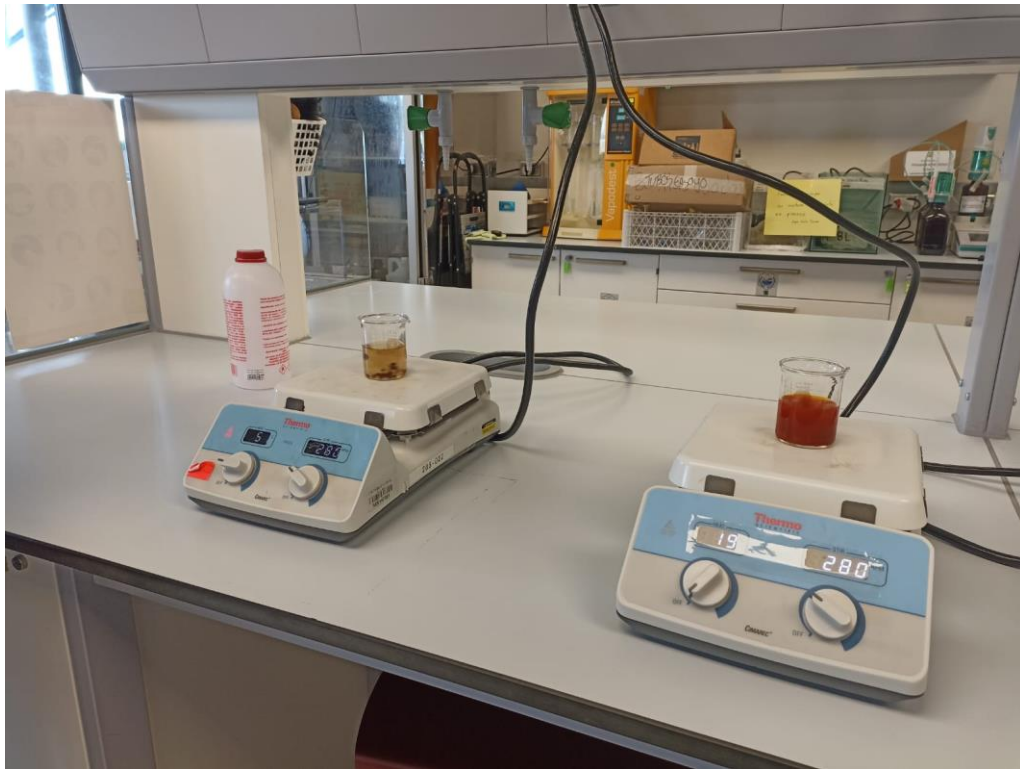
**Figura 1 (anexo)**

*Balanza utilizada para medir la masa de las muestras*



**Figura 2 (anexo)**

*Pigmento extraído de la planta Bixa Orellana a los 10 minutos de exposición utilizando agua y alcohol como disolventes.*



**Figura 3 (anexo)**

*Espectrofotómetro utilizado para la evaluación de color en la muestra*



## BIBLIOGRAFÍA

Ardila-Leal, L. D., Poutou-Piñales, R. A., Pedroza-Rodríguez, A. M., & Quevedo-Hidalgo, B. E. (2021). A Brief History of Colour, the Environmental Impact of Synthetic Dyes and Removal by Using Laccases. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(13), 3813. <https://doi.org/10.3390/molecules26133813>

Cubillo, L y Pava, L (2020) Evaluación de la extracción de pigmentos vegetales como antocianina a partir de diferentes frutos silvestres para uso alimenticio. Fundación Universidad de América <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/8305/1/6161726-2021-1-IQ.pdf>

Fabiano-Tixier, A. S., Vian, M., Allaf, T., & Vorobiev, E. (2015). Solvent-free extraction of food and natural products. *TrAC. Trends in analytical chemistry* (71), 157-168. (2015).

Fox, J. y Weisberg, S (2019). *car: An {R} Companion to Applied Regression*, Third Edition. Thousand Oaks CA: Sage. <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>

Hardesty, J. H., & Attili, B. (2010). Spectrophotometry and the Beer-Lambert Law: An important analytical technique in chemistry. *Collin College, Department of Chemistry*.

Jiménez, M., Zambrano, M. y Aguilar, M. (2004). Estabilidad de pigmentos en frutas sometidas a tratamiento con energía de microondas. *Revista Información Tecnológica*, 15(03), 61-66. [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=s0718-07642004000300009&script=sci\\_arttext](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=s0718-07642004000300009&script=sci_arttext)

Mattenet, F. J., Goyheneix, M., & Peri, P. L. (2015). Tintes naturales de plantas nativas: Colores de la Patagonia.

Mayanquer, Freddy & Oleas, Nelly. (2017). Evaluación de la estabilidad del pigmento natural obtenido a partir de mortiño (*Vaccinium myrtillus* L) como colorante para la industria de alimentos. *SATHIRI*. 12. 171. 10.32645/13906925.81.

Parra, V. (2004). Estudio comparativo en el uso de colorantes naturales y sintéticos en alimentos, desde el punto de vista funcional y toxicológico [Tesis de Licenciatura, Universidad Austral de Chile]. <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2004/fap259e/pdf/fap259e.pdf>

Sarkar, D. (2008) *Lattice: Multivariate Data Visualization with R*. Springer, New York. ISBN 978-0-387-75968-5

Thompson, E. (2009). Tintes tradicionales para colorear papel. *Revista Herencia*, 22(01), 79-87. <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/herencia/issue/view/1055>

Thompson, E. (2014). Pigmento azul a partir de productos de la naturaleza. Revista de las artes, 74(01), 91-104. <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/escena/article/view/17540>

Uscategui, N. (1961). Algunos colorantes vegetales usados por las tribus indígenas de Colombia. Revista Colombiana de Antropología, 10, 333-340. <https://revistas.icanh.gov.co/index.php/rca/article/view/1645>

Vieito, Catarina & Fernandes, Élia & Velho, Manuela & Pires, P.. (2018). The Effect of Different Solvents on Extraction Yield, Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Extracts from Pine Bark (*Pinus pinaster* subsp. *atlantica*). Chemical Engineering Transactions. 64. 10.3303/CET1864022.

Wickham et. Al., (2019). Welcome to the tidyverse. Journal of Open Source software, 4(43), 1686, <https://doi.org/10.21105/joss.01686>

Zumahi, S., Arobi, N., Taha, H., Hossain, M. K., Kabir, H., Matin, R., Bashar, M. S., Ahmed, F., Hossain, M. A., & Rahman, M. M. (2020). Extraction, optical properties, and aging studies of natural pigments of various flower plants. Heliyon, 6(9), e05104. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05104>